



TITLE:

# 実験動物腫瘍の増殖に及ぼす Gibberllin の影響

AUTHOR(S):

小無田, 浩

---

CITATION:

小無田, 浩. 実験動物腫瘍の増殖に及ぼす Gibberllin の影響. 日本外科宝  
函 1964, 33(6): 1060-1081

ISSUE DATE:

1964-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/205761>

RIGHT:

# 実験動物腫瘍の増殖に及ぼす Gibberellin の影響

京都大学医学部外科第1講座（指導：荒木千里教授）

小 無 田 浩

〔原稿受付 昭和39年9月10日〕

## The Effect of Gibberellin on the Growth of Transplantable Mouse Tumors

by

HIROSHI KOMUTA

From the 1st Surgical Division, Kyoto University Medical School  
(Director: Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

Gibberellin, a product of *Gibberella fujikuroi* Wollenweber, has a growth promoting function for plants, which is attributed to its sub-fraction Gibberellin A. The effect of Gibberellin A on plants have been studied by various authors, who have shown that the agent has a cell expanding action on young plant tissue in the process of development. Some investigators have indicated that it also promotes division of plant cells. On the other hand, in regard to the effect on the growth of animals, Gibberellin A has been reported to have a growth stimulating effect on the cartilage; its mechanisms being probably of an enlargement of the volume of cartilage cells as well as a promotion of their division. The effect of Gibberellin A on the growth of tumors has not yet been studied. In this experiment the influence of Gibberellin A on the growth of transplantable mouse tumors was examined.

In the first part of this report, mice of dd strain were inoculated with Sarcoma 180, Ehrlich ascites carcinoma or NF Sarcoma. After a varying course of time, Gibberellin A was injected to the mice intraperitoneally or intramuscularly in a dose of 700 mg, 70 mg or 7 mg per kilogram of body weight. In some mice, the injection was repeated daily for 4 or 7 days. In all the animals, their survival days, changes in body weight, growth rate of tumors, histological findings of tumor tissue, and especially changes in mitotic index were studied. The results were as follows;

- 1) In Sarcoma 180 bearing mice :
  - i) When Gibberellin A was administered in an amount of 700 mg per kilogram of body weight daily :
    - a) The increase in body weight was accelerated and the animals died earlier than the control animals.
    - b) The mitotic index in the ascitic fluid was found to be higher than that of the control animals. The increase in mitotic index seemed to be followed by an actual promotion of cell division.
    - c) An increase in the number of the tumor cells of a relatively small size was

observed in accordance with the increase in the mitotic index in the ascitic fluid.

- ii) When Gibberellin A was administered in an amount of 70 mg or 7 mg per kilogram of body weight, the influences of Gibberellin A such as those described in (i) were not observed.
  - iii) The findings of abnormal mitosis of tumor cells such as polypolar or asymmetric division were not influenced, even when Gibberellin A was administered in as a large amount as 700 mg per kilogram of body weight.
- 2) In Ehrlich ascites carcinoma or NF Sarcoma bearing mice :
- Gibberellin A did not have any influence on the growth rate of the tumors, even when as large an amount of Gibberellin A as 700 mg per kilogram of body weight was administered.

In the second part of this report, influence of Gibberellin A on the in vivo synchronous mitosis of tumor cells induced by hypothermia was studied. After the Sarcoma 180 bearing mice were injected with Gibberellin A in an amount of 700 mg per kilogram of body weight, at the time when the mitotic index increased, the mice were cooled so that the rectal temperature might be maintained at the level of 17°C for six hours. After the hypothermia, the mice were rewarmed and the body temperature was restored to normal. Ascitic fluid was aspirated from each mouse every hour during and after hypothermia, and changes in the mitotic index in the ascitic fluid were examined.

The results were as follows ;

- 1) The curve of mitotic index in the in vivo synchronous mitosis in Sarcoma 180 induced by hypothermia gave at least two peaks after the release from hypothermia. The interval of these peaks in the groups treated with Gibberellin A was two hours shorter than that in the control groups which were cooled without Gibberellin A.
- 2) When the animals were injected with Gibberellin A prior to hypothermia, the degree of synchronization of mitosis was higher than when the animals were merely cooled without administration of Gibberellin A. The mitotic index in the group without Gibberellin administration which was 1.7% before hypothermia reached a value of 3.5% after the hypothermia. In contrast, the mitotic index in the group with Gibberellin administration reached a high level of 4.0% after hypothermia.

## 目 次

第1編 2, 3の実験動物腫瘍の増殖に及ぼすGibberellinの影響	殖動物に於ける実験成績
第1章 緒 言	第6章 考 按
第2章 実験材料及び投与方法	第2編 癌細胞のin vivo synchronizationに及ぼすGibberellinの影響
第3章 予 備 実 験	第1章 緒 言
第4章 Sarkoma 180被移植動物に於ける実験成績	第2章 予 備 実 験
第1節 Gibberellinの7回連続投与の場合	第3章 本 実 験
第2節 Gibberellinの4回連続投与の場合	第4章 考 按
第3節 Gibberellinの1回投与の場合	第3編 総括及び結語
第5章 Ehrlich ascites carcinoma, NF Sarkoma被移植動物に於ける実験成績	参 考 文 献

第1編 2, 3の実験動物腫瘍の増殖に及ぼすGibberellinの影響	殖動物に於ける実験成績
第1章 緒 言	第6章 考 按
第2章 実験材料及び投与方法	第2編 癌細胞のin vivo synchronizationに及ぼすGibberellinの影響
第3章 予 備 実 験	第1章 緒 言
第4章 Sarkoma 180被移植動物に於ける実験成績	第2章 予 備 実 験
第1節 Gibberellinの7回連続投与の場合	第3章 本 実 験
第2節 Gibberellinの4回連続投与の場合	第4章 考 按
第3節 Gibberellinの1回投与の場合	第3編 総括及び結語
第5章 Ehrlich ascites carcinoma, NF Sarkoma被移植動物に於ける実験成績	参 考 文 献

## 第1編 2, 3 の実験動物腫瘍の増殖に及ぼす Gibberellin の影響

## 第1章 緒 言

Gibberellinは、稲の馬鹿苗病菌(*Gibberella fulikuroi* Wollenweber)の代謝産物で、植物に対して生長促進作用を有している。

1935年、藪田、住木等は、稲の馬鹿苗病菌の培養ろ液より、稲の徒長作用を起す物質を抽出し、病原菌の学名に因んで之を Gibberellin と命名し、その後この抽出物は、Gibberellin A 及び B に分離され、A は更に現在、化学的並びに生理作用の酷似した  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$  の4つの物質に分離されている。これらの物質は、共に一塩基性酸で、アルコール系溶剤、アセトン、酢酸エチル等に溶けるが、水には難溶性である<sup>3)5)8)9)</sup>。

Gibberellin の植物体に対する生理的作用に就いては、多数の研究がある。即ち、植物体に対し Gibberellin は、植物生長促進作用があり、殊に茎部の生長促進は最も著明なる作用である。この茎部の伸長は、一般に植物細胞自体が伸長する事に依つて起こり、細胞分裂促進によるものではないと云われているが、Sachs 等の如く、細胞分裂促進作用をも認める説もある<sup>4)6)7)9)11)</sup>。

一方、Gibberellin の動物体に対する作用に就いての研究は少ない。1941年、藪田、住木<sup>10)</sup>は鶏胚心臓組織片の組織培養を行ない、之に就いての Gibberellin の作用を観察した結果、何んらの細胞増殖作用も認め得なかつたと報告しているが、鷺山<sup>12)</sup>は、1963年、鶏胚上顎軟骨の体外培養を行ない、培地に各種濃度の Gibberellin 溶液を添加して、培養軟骨細胞及び緑線芽細胞の生長を検討した結果、高濃度に就いて生長促進作用を認め、且つこの生長促進作用は、細胞分裂の促進によるものであろうと云っている。又、安立<sup>11)</sup>は、幼若マウスに種々の濃度の Gibberellin 溶液を連続注射し、骨、軟骨の生長に及ぼす影響を観察した結果、高濃度投与群に於いて、骨、軟骨の生長が促進される事実を認め、これは軟骨細胞の肥大と分裂促進に依るものであると云っている。

このように、植物体に対して著明なる生長促進作用を発現し、又、動物体の軟骨細胞等に対しても、植物体に対するに比較して極めて僅かではあるが、生長促

進作用を示す Gibberellin が、旺盛なる自律性増殖を一つの特徴とする腫瘍に対して、特に腫瘍の増殖に対して如何なる影響を及ぼすかという事は興味ある問題であるが、今迄殆んど研究が行なわれていない。

私は、液性及び固形の実験動物腫瘍を使用し、Gibberellin を直接坦癌動物に投与して、坦癌動物の生存日数、腹水貯留状態、腫瘍の発育状態、腫瘍細胞の組織学的検査、腫瘍細胞分裂数の経時的变化、異常細胞分裂等に及ぼす Gibberellin の影響を中心に研究を行なった。

## 第2章 実験材料及び投与方法

実験動物は、京大動物センターより供給された生後6週目の雄の dd mouse をオリエンタル固形飼料及び水にて飼育し、生後8週目、且つ体重は全て22g のものを使用した。

実験腫瘍としては、京大外科に系代移植されている Ehrlich ascites carcinoma, Sarkoma 180 及び塩野義製薬研究所より分譲された NF Sarkoma を使用した。尚、腹水型腫瘍細胞の移植には移植後1週間目の坦癌 dd mouse より採取した腹水を、原液のまま或いは生理食塩水にて希釈して使用した。細胞数算定は、白血球数算定法に依つたが、原液 0.2cc 中には移植後1週間目では、約2000万個の細胞を含有し、生理食塩水にて10倍に希釈した腹水 0.1cc 中には約100万個を含有していた。

Gibberellin は Gibberellin A ( $A_3, A_1$  の 9 : 1 混合物) の Ca 塩の 15.4%, 1.54%, 0.154% の3種類の食塩水溶液を作製し、そのいずれかの溶液の 0.1cc を 22g の dd mouse の腹腔内、或いは筋肉内に注射した。即ち、使用した mouse の体重はすべて 22g であるから、15.4% 液 0.1cc 注射の場合は Gibberellin A 投与量は体重 1g あたり 700mg, 1.54% 液の 0.1cc 注射の場合は 1g あたり 70mg となり、0.154% 液 0.1cc 注射の場合は 1g あたり 7mg となる。

## 第3章 予備実験

## 第1節 実験方法

正常 dd mouse の 15 匹を 5 匹づつの 3 群に分け第 1

群にはGibberellin A 700mg/kgを毎日連続して14日間筋肉内に投与し、第2群には腹腔内に同様な投与を行なった。第3群は非投与の対照群とした。これら3群について投与開始日よりmouseの動作、毛髪の状態等の全身状態を観察すると共に、3日毎に各群毎の合計の体重を測定した。又、Gibberellin投与終了日の翌日即ち、投与開始日より15日目にmouseを屠殺し内臓の肉眼的観察及び肝臓、脾臓、腎臓のヘマトキシリン・エオジン二重染色による組織学的検査を行なった。

## 第2節 実験結果

### 1) 全身状態

腹腔内投与群、筋肉内投与群共にmouseの動作の変化、毛髪の光沢消失、脱毛等は認められず、又、死亡したものもなかった。

### 2) 体重変化(図1)

Gibberellin投与群は、実験経過中もほぼ平行なゆるやかな体重増加を示し、対照群に比較して殆んど差違が認められなかった。

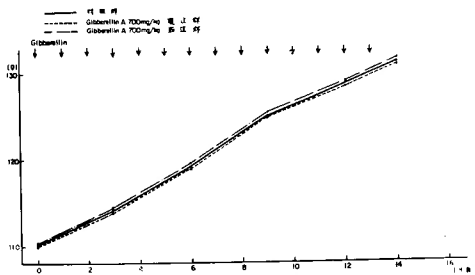


図1 正常マウスの体重変化

### 3) 内臓の肉眼的並びに組織学的所見

肉眼的に投与群の内臓諸器管に異常所見は認められず、又、H・E・染色に於いても、肝臓、脾臓及び腎臓等に異常所見は認め得なかつた。

## 第4章 Sarcoma 180被移植動物に於ける実験成績

### 第1節 Gibberellinの7回連続投与の場合

#### 第1項 担癌動物の生存日数及び体重変化に就いて

##### 1) 実験方法

腹水型Sarcoma 180の細胞約100万個を腹腔内に移植したdd mouseを、10匹ずつの7群に分け1群は対照とし、他の6群には次に述べる如くGibberellin Aの投与を行なった。即ち、移植直後にGibberellin Aの第1回

目を投与し、以後24時間毎に連続して合計7回の投与を行なった。Gibberellin Aの1回投与量は、700mg/kg、70mg/kg、7mg/kgの3通りに分類し、その夫々の投与量に就いて腹腔内、筋肉内の2方法の投与を行なった。対照群には、Gibberellin Aの代りに生理食塩水0.1ccを腹腔内に投与した。これらの実験動物群に就いて腹水貯留状態の観察の為、移植日より毎日各群毎に一括して体重測定を行ない、又、生存日数の観察を行なった。

##### 2) 実験結果

###### i) 生存日数に就いて(図2, 3)

Gibberellin投与群中、700mg/kg筋肉内投与群に僅かながら生存日数短縮の傾向が認められた。即ち、平均生存日数は対照群では19.5日、700mg/kg筋注群では14.5日で、約5日間の短縮が認められた。併しその他のGibberellin投与群では対照群との差違を認め得なかつた。

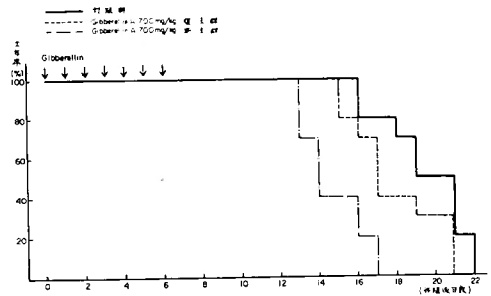


図2 Sarcoma 180被移植マウスの生存日数に及ぼすGibberellinの影響

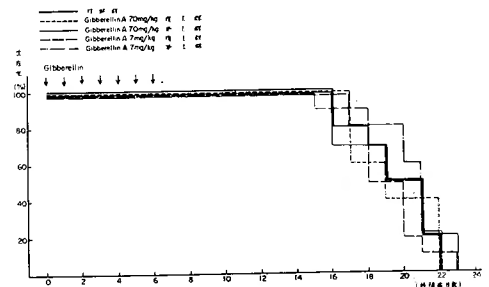


図3 Sarcoma 180被移植マウスの生存日数に及ぼすGibberellinの影響

###### ii) 体重変化(図4, 5)

対照群の体重増加曲線は、移植後3日目よりやや増加しはじめ、5日目頃より漸次急激な増加を示し、

14日目にはピークに至り、以後やや減少の傾向を示す。

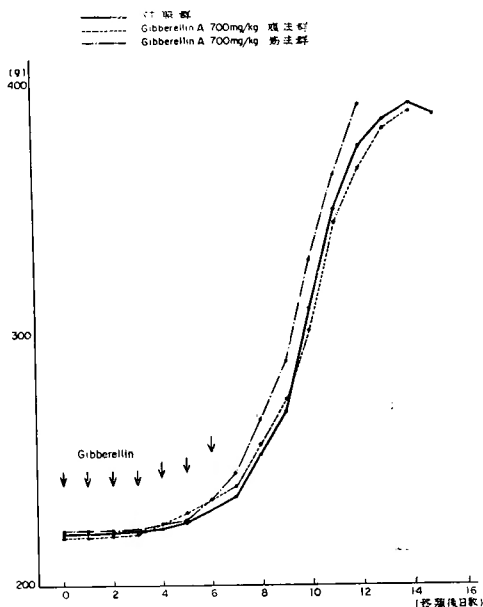


図4 Sarkoma 180 被移植マウスの体重増加に及ぼすGibberellinの影響

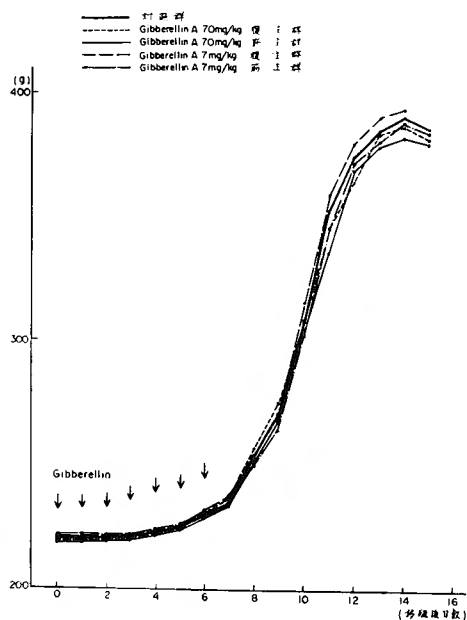


図5 Sarkoma 180 被移植マウスの体重増加に及ぼすGibberellinの影響

筋肉内投与群の内、700mg/kgを注射した群の体重は、注射後7日目迄は殆んど対照群と同様な増加を示したが、それ以後やや体重増加の傾向が大きくなり死亡開始前日、12日目には既に対照群のピーク時、第14日目に相当する体重増加を示していた。その他の群では、すべて、ほぼ対照群と同様であつた。

## 第2項 組織学的変化に就いて

### 1) 実験方法

腹水型Sarkoma 180の細胞約2000万個をdd mouseの腹腔内に移植し、1群12匹として7群を作り、第1項と同様な方法でGibberellinを投与した。これらの動物について移植後第1日目より24時間毎に、Gibberellin投与直前及び投与終了の翌日極く少量の腹水を採取して、各担癌マウス毎に経時的に1回の腹水で1枚の塗抹標本を作製した。これらの標本に就いてGibberellin投与による細胞の変性像及び細胞の大きさの変化を検索した。更に全く同様な方法で実験した他の7群に就いても同様な標本を作り、分裂指数値の経時的变化を検索した。

### 2) 観察方法及び実験結果

#### i) Gibberellinによる腫瘍細胞の変性像の変化

上記標本をメタノール固定後、型の如くギムザ染色を行ない、投与群及び非投与群間の細胞の形態的比較観察を行なった。

観察結果：投与群、非投与群間に腫瘍細胞の染色性、一般的な形態的特徴に差は認められなかつた。即ち、各群共通して、細胞体は好塩基性が強く、その形態は円形のものが多いが、楕円形、類円形のものも少数認められた。又、吉田肉腫細胞に見られるようなアズール顆粒は認められなかつた。分裂直後の細胞では、核膜が不明であるが、次第に明瞭になり細かい色質が一様に充満して来るのが認められた。核は原形質の中央或いは一方にかたよつて位置し、楕円形及び球形のものが多いが、又、桿状のものも少なくなつた。核小体は、一般に染まり難く、明瞭な染色像を呈しないものが多いが、変性におちいつた細胞では殆んど全てが明瞭な染色像を呈していた。その数は2, 3個のもの、数個存在するものまで多様であつた。変性像を呈する腫瘍細胞は、投与群、非投与群共に出現したが変性像の質的な差は見出されなかつた。即ち、核、原形質の空胞形成、棘形成、或いは核、原形質の肥大像、核が膨化すると共に色質を失なつて明るく核網、核小体が著明になり遂に核膜を失なつて核融解を起し、又、原形質の融解を起した像等が見られると共

に核、原形質の濃染した像も少数ながら認められた。これらの変性細胞の出現率は、対照群、投与群共に経時的に増加の傾向を示すが、700mg/kg腹腔内投与群では、移植後6～7日目には対照群に比し著明な出現率の増加を来していた。変性所見中、最も著明で且つ客観的比較観察を行ない易いと思われる核融解及び原形質融解像の出現率について調べてみると各群共に移植後2～3日目で10%前後、4～5日目で15%前後であるが、その後、移植後6～7日目では700mg/kg腹腔内投与群においてのみ急激に増加し、対照群の20%前後に比し35%前後の高い値を示した。他の Gibberellin 投与群では変化を認め得なかつた。

## ii) 細胞体の大きさに及ぼす影響

i) の標本を用いて、細胞体の大きさに及ぼす (Gibberellin) 投与の影響を観察した。細胞質及び核の長径の分布を調べる事で細胞質及び核の大ききの分布の大体の指標となし得るので各群共に 300 個の細胞を選出しmicrometer を使用して型の如く細胞質及び核の長径を測定した。700mg/kg筋注及び腹注群については(iii)に後述する如く分裂細胞数の増加が認められたので経時的に毎日 1 週間、70mg/kg筋注群及び 7 mg/kg腹注群では移植後 3 日、7 日目の 2 回、夫々細胞質及び核の長径のヒストグラムを作製して、その分布を比較すると共に、細胞質及び核の長径の平均値の算出比較を行なつた。この際、変性細胞は除外し、又、多核細胞の核の長径は、夫々の核の長径の和をもつて示した。

### 観察結果：

(i) 細胞質長径に就いて(図6, 7表1, 2)：対照群の細胞質長径のヒストグラムを見るに、全体として一相性の分布を示すが、曲線はやや右方への拡がり強く、所謂、ポアソン曲線の分布と著しく異つていた。又、移植後第 1 日目から第 2 日目には、分布曲線の底がやや小さくなり、以後再び時間の経過と共に大きくなるような傾向が見られた。即ち、分散度は、移植後第 2 日目が一番小であり、且つ比較的に小さい細胞である長径11～14μの間の細胞が過半数を占めた。又、長径の平均値も移植後第 2 日目にやや小さくなり、再び漸次大きくなるような傾向を示した。

Gibberellin 投与群中 700mg/kg 腹注群では、分布曲線の形状は対照群と大体同じであるが、分布曲線の底の拡がり方が、移植後 3、4 日目で対照群に比べやや狭く、且つ 3 日目に於いても尚11～14μ間の細胞数が過半数を占めていた。長径の平均値も移植後3, 4 日目では、やや対照群より小さかつた。併し、長径平均値

の推移は、大体に於いて対照群と同じような経過を示した。700mg/kg筋注群でも分布曲線の形状は対照群と大体に同じであり、又、移植後 5 日目迄は分布曲線の拡がり方、及び平均値も大体に同じであるが、移植後第 6 日目、7 日目では、11～14μの細胞出現が再び増加して分布の中心が対照群に比し左方に移動していた。長径平均値も、この期間には対照群よりやや小さかつた。他の Gibberellin 投与群には差違を見出し得なかつた。

表 1 細胞質の平均値 単位=μ

群別 移植後日数	対 照 群	700mg/kg腹注群	700mg/kg筋注群
7 日 目	15.90	16.18	15.15
6 日 目	15.80	15.72	15.23
5 日 目	15.20	15.35	15.27
4 日 目	11.90	14.37	14.97
3 日 目	14.57	11.11	14.43
2 日 目	14.06	11.00	14.02
1 日 目	14.56	14.60	14.51

表 2 細胞質の平均値 単位=μ

群別 移植後日数	対 照 群	70mg/kg筋注群	7mg/kg腹注群
7 日 目	15.90	15.94	15.60
3 日 目	11.57	11.50	14.60

(ii) 核の長径に就いて(図8, 9表3, 4)：対照群のヒストグラムの分布状態は、細胞質の長径ほど分散の程度は著しくなく、曲線は大体に於いて左右対称に近い分布を示した。曲線の底の拡がり方の推移は、細胞質程著明ではないが、大体にほぼ同様な変化を示し、移植後第 2 日目が分散度は一番小であつた。長径平均値は第 2 日目に一時小となり、以後再び経時的に増加の傾向を示した。700mg/kg腹注群、700mg/kg筋注群のヒストグラムにも大体に左右対称的な分布を示すが、700mg/kg腹注群では移植後第 3 日目に、700mg/kg筋注群では移植後第 7 日目に僅かではあるが対照群に比し分散度が小さくなり分布曲線の中心位置の左方移動が認められた。又、長径平均値も700mg/kg腹注群では第 3 日目、700mg/kg筋注群では第 7 日目に於いて夫々僅かながら対照群より小さかつた。他の Gibberellin 投与群では差違を見出し得なかつた。

## 細胞質の長径

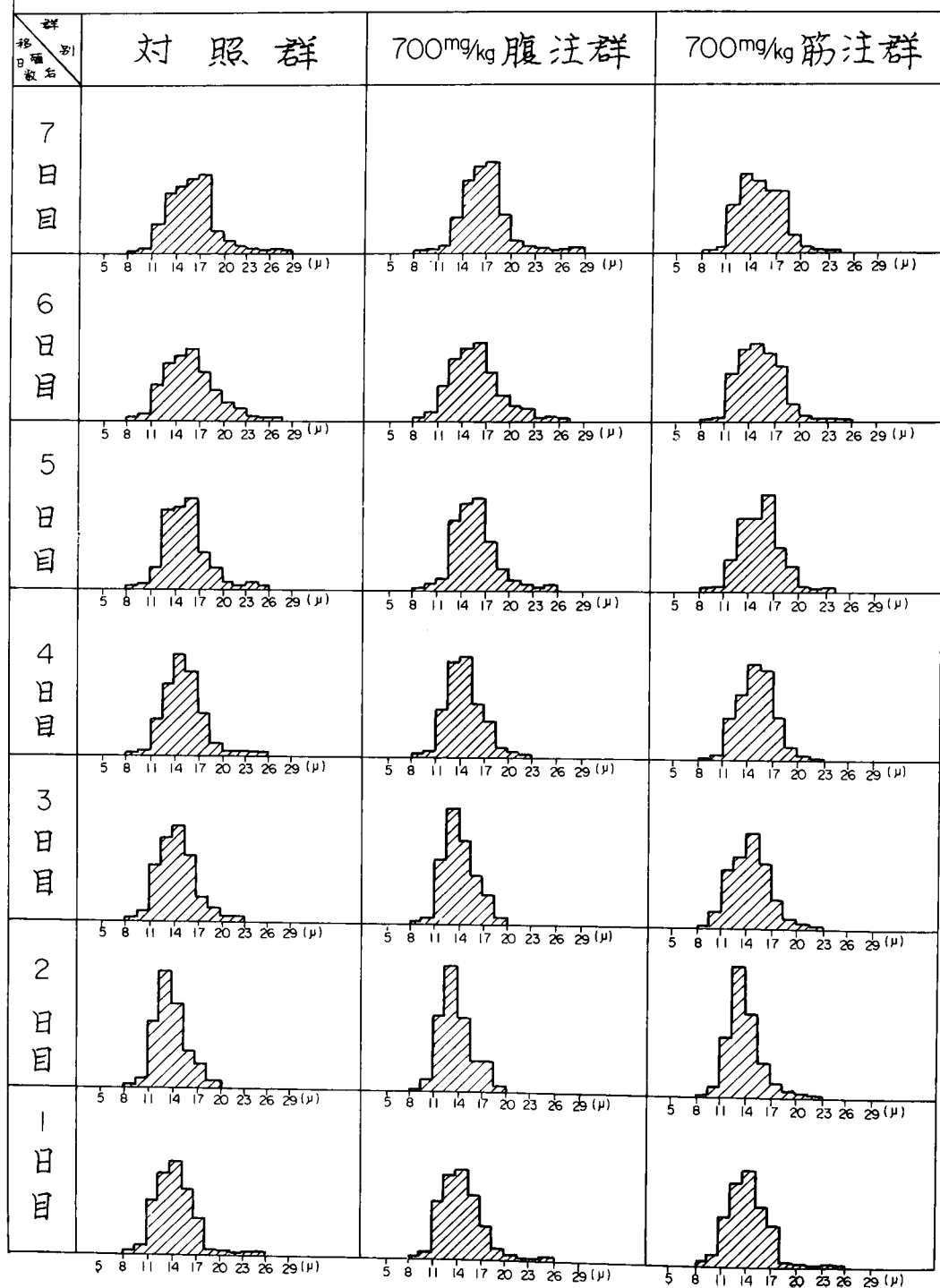


図 6



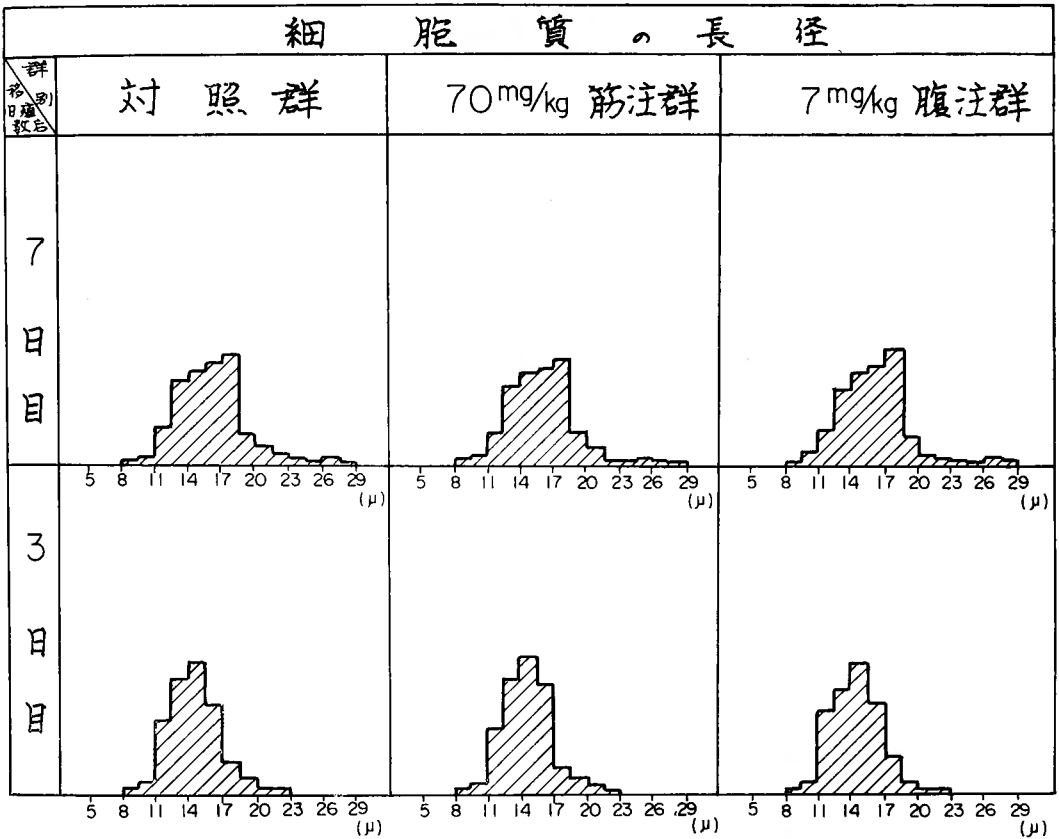


図 7

表 3 核の長径平均値 単位=μ

群別 移植後日数	対 照 群	700mg/kg腹注群	700mg/kg筋注群
7 日目	12.81	12.91	12.60
6 日目	12.71	12.73	12.48
5 日目	12.56	12.60	12.55
4 日目	12.38	12.12	12.40
3 日目	12.06	11.75	12.00
2 日目	11.70	11.60	11.67
1 日目	12.04	12.05	12.06

表 4 核の長径平均 値単位=μ

群別 移植後日数	対 照 群	70mg/kg筋注群	7mg/kg腹注群
7 日目	12.81	12.75	12.80
3 日目	12.06	12.10	12.12

### iii) 分裂細胞数の経時的変化

上記の方法で作製した標本について分裂細胞数の経時的変化に及ぼす Gibberellin の影響を観察した。

染色法：採取した標本をメタノール固定後、Feulgen 氏染色を行なった。即ち、60℃に加温した INHCl 溶液中に4分間浸し、水洗後、Schiff 氏液で約40分間染色し亜硫酸水で約5分間洗い再び水洗し、これに更に約10分間のギムザ染色を追加した。

算出法：動物1匹につき1枚の標本毎に、3000個の細胞中の分裂細胞数を数え、各群共に12匹の平均値を算出して観察総腫瘍細胞数に対する%で分裂細胞指数を示した。尚、細胞分裂はその過程により前期、中期、後期、終期の4期に分類されるが本実験ではこの分裂各期毎の分裂細胞の出現率も同様に算出した。後期、終期は出現率が非常に低値なのでその合計値で示した。又、検鏡上、分裂各期の範囲は次のように規定した。即ち、

## 核の長径

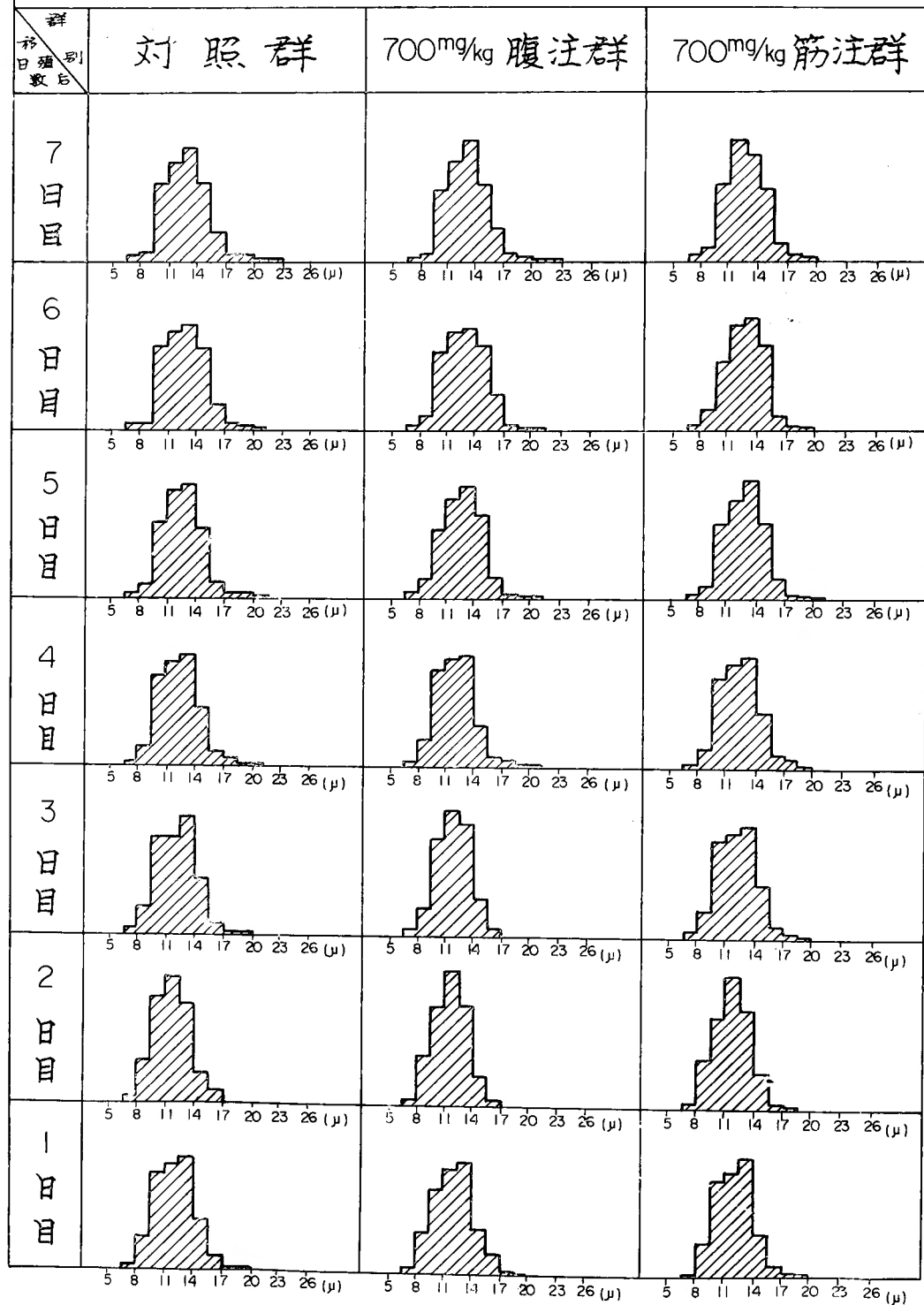


図 8

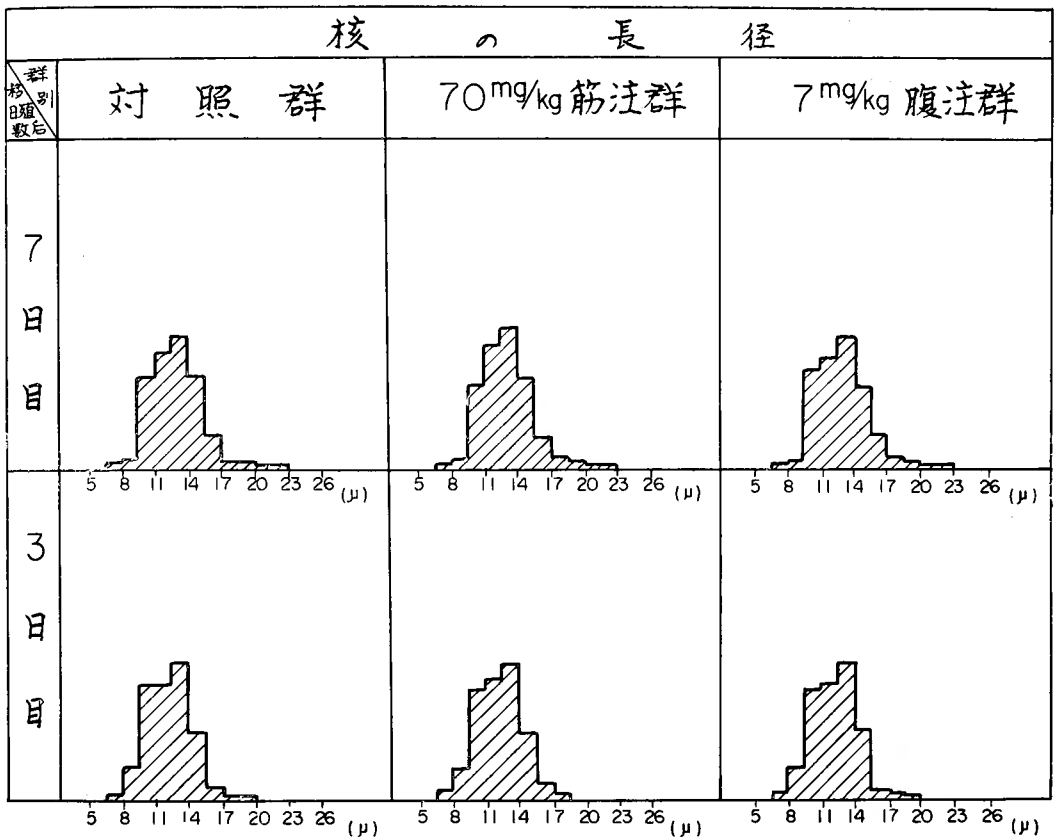


図 9

前期：核において核小体，核膜が不明になり染色質が濃染されてくる。染色質ではこれを作る顆粒が相連なり糸状物となり即ち，Chromatin filamentsを作つてくる。次いでこれが太く，短かく，表面平滑な糸状物に変わり，これが分断され一定数の係蹄状の染色体となつてくる迄。

中期：染色体が赤道面に於いて，係蹄の頂点を細胞の中心に向けて並び，次にこの染色体が縦に二分され，娘係蹄となる迄。

後期：娘係蹄が索引糸により両極に向つて引かれ分離現象を起こし，又，細胞体が赤道面に於いてくびれはじめる迄。

終期：分裂の回復期で細胞の両極に分かれ移つた後の娘星が次第にその固有の姿を失ない休止核に見られる染色質に近い形となる。即ち，核小体，核膜が出現しはじめ，細胞体に生じたくびれは，ますます深くなり遂には細胞が二分される迄。

観察結果：

(イ) 対照群の分裂指数の変化(図10)：移植後第1日目は1.3%，以後急激に増加し，第2日目に，所謂第一次増加期のピーク2.6%に達し，その後漸次減少し5日目には最低値1.1%になつた。次いで再び増加して6日目には第二次増加期のピーク1.5%に至り，その後再び減少した。又，前期，中期，後期+終期の細胞の出現率の割合は，移植後第1日目で大体7：10：3の比率を示した。以後経時的に僅かながら前期の出現率が減少し，中期，後期+終期の占める割合がやや増加するような傾向を示すが，大体はほぼ一様な割合を保つて分裂指数に平行した増減を示した。

(ロ) Gibberellin 投与群の分裂指数の変化(図11, 12, 13, 14)：700mg/kg腹注群は，移植後第1日目より第2日目迄は対照群と大体同じように急激な増加を示すが，第3日目2.7%，第4日目2.6%と第一次増加期が持続する傾向を示した。第4日目で対照群に比し約1%の増加を示した。併し，それ以後急激に減少して第二次増加期は認められず，むしろ対照群より減少する

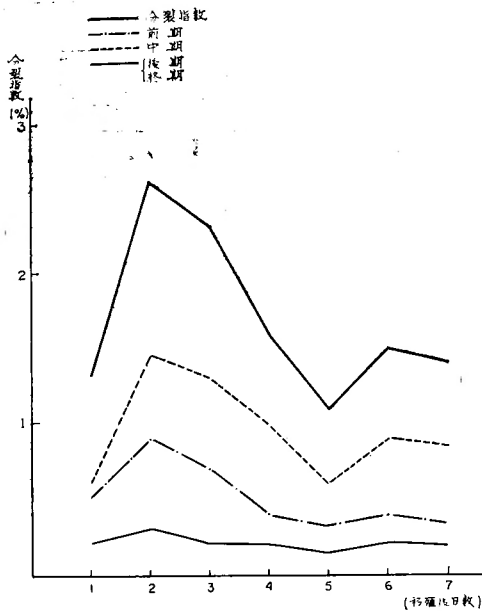


図10 Sarkoma 180の分裂指数の変化

傾向が認められた(図11)。700mg/kg筋注群は、移植後第5日目迄は大体対照群と同じような増減を示すが、6日目より増加の傾向を示し、7日目には2.2%と対照群に比し約1%の増加を示した。即ち、対照群の第二次増加期に相当する時期に著明なる増加傾向を示した(図11)。これら700mg/kg筋注、腹注群の分裂指数の増加は、各分裂期細胞のほぼ一様な増加によるもの

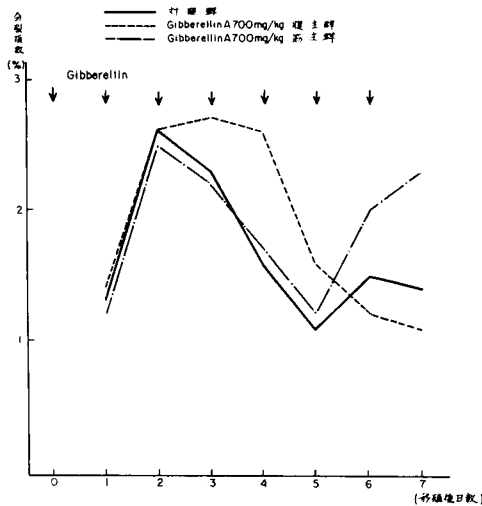


図11 Sarkoma 180 の分裂指数の変化に及ぼすGibberllinの影響

で、分裂期の或る特定の時期の細胞の増加によるものではなかつた(図12, 13)。ところがその他のGibberellin投与群に於いては、対照群と有意の差を見出し得なかつた(図14)。

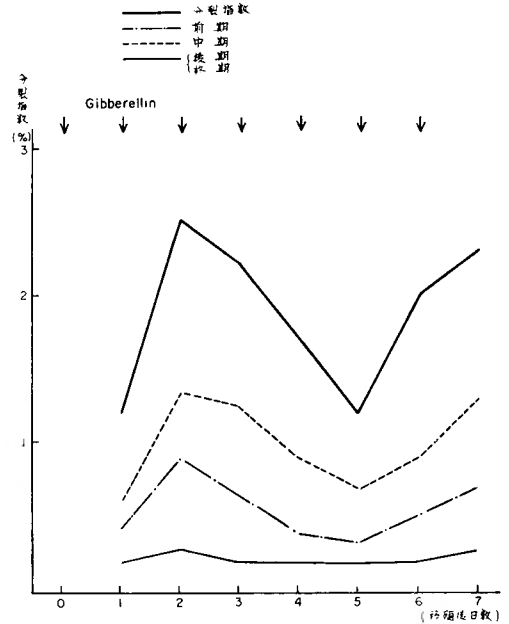


図12 Sarkoma 180 分裂各期細胞指数の変化に及ぼすGibberllin A700mg/kg 筋肉内投与の影響

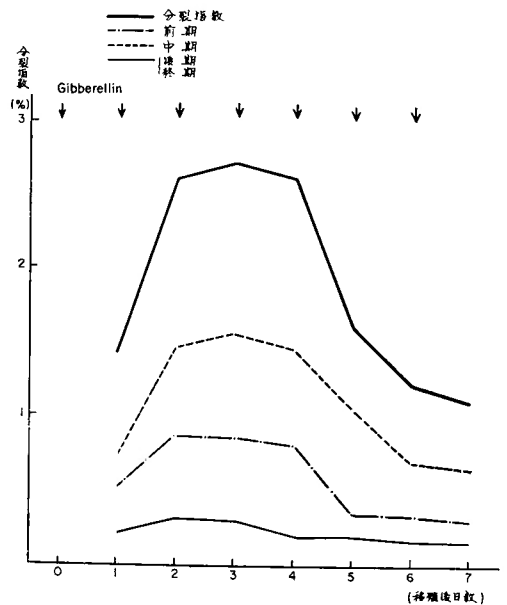


図13 Sarkoma 180 の分裂各期細胞指数の変化に及ぼすGibberllin A700mg/kg 腹腔内投与の影響

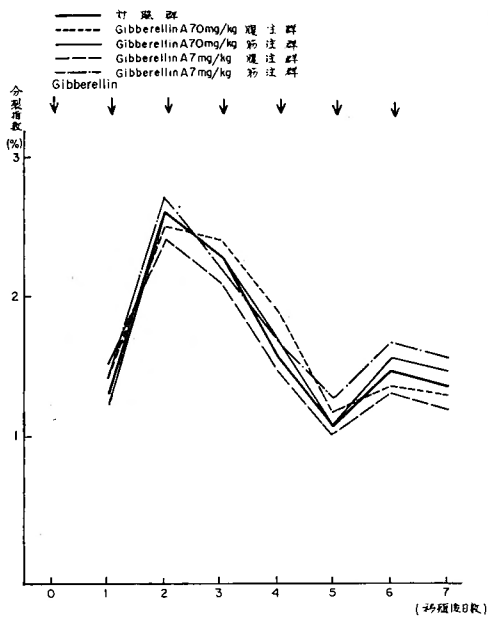


図14 Sarkoma 180 の分裂指数の変化に及ぼすGibberellinの影響

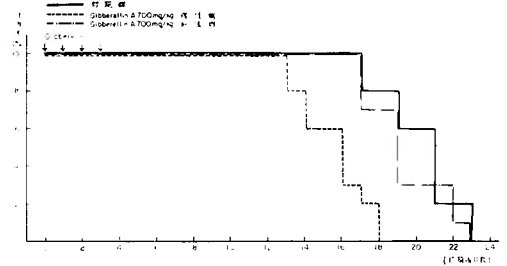


図15 Sarkoma 180 被移植マウスの生存日数に及ぼすGibberellinの影響

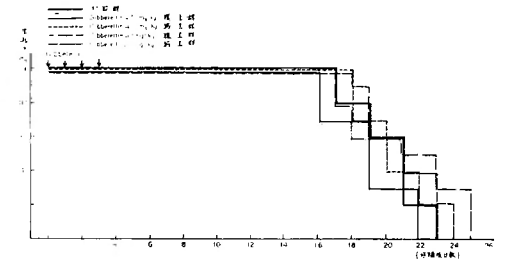


図16 Sarkoma 180 被移植マウスの生存日数に及ぼすGibberellinの影響

## 第2節 Gibberellinの4回連続投与の場合

### 第1項 担癌動物の生存日数及び体重変化に就いて

#### 1) 実験方法

腹水型Sarkoma 180の細胞約100万個を腹腔内に移植した dd mouse を、1群10匹として7群に分け、1群は対照とし、他の6群には次の如く Gibberellin を投与した。即ち、移植直後に Gibberellin の第1回目を投与し、以後24時間毎に連続して合計4回の投与を行なった。Gibberellin の投与は第1節、第1項に於けると同様な組合せの方法により6群に行なわれた。この実験動物群に就いて、腹水貯留状態の観察の為移植日より毎日各群毎に一括して体重測定を行なうと共に、生存日数の観察を行なった。

#### 2) 実験結果

##### i) 生存日数に就いて (図15, 16)

Gibberellin 投与群中700mg/kg腹腔内投与群にのみ僅かではあるが、約5.5日の平均生存日数の短縮傾向が認められた。他の投与群では、対照群に比し有意の差を認め得なかつた。

##### ii) 体重変化 (図17, 18)

700mg/kg腹注群は、対照群に比しやや体重増加の傾向が大きく、死亡開始前日12日目には、すでに対照群

の体重増加曲線のピーク時(14日目)に相当する体重増加を示していた。他の Gibberellin 投与群には、対照群に比し有意の差を見出し得なかつた。

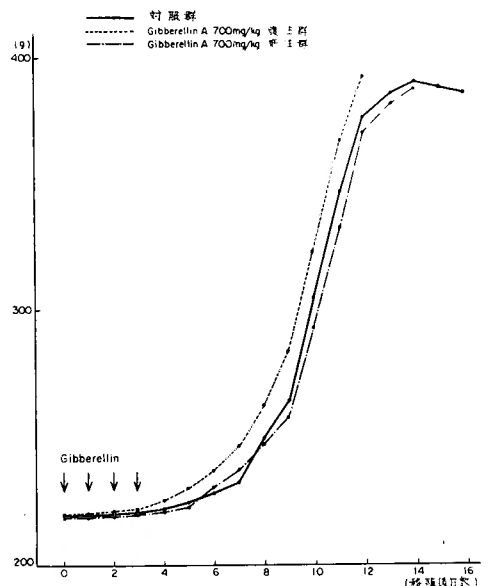


図17 Sarkoma 180 被移植マウスの体重増加に及ぼすGibberellinの影響

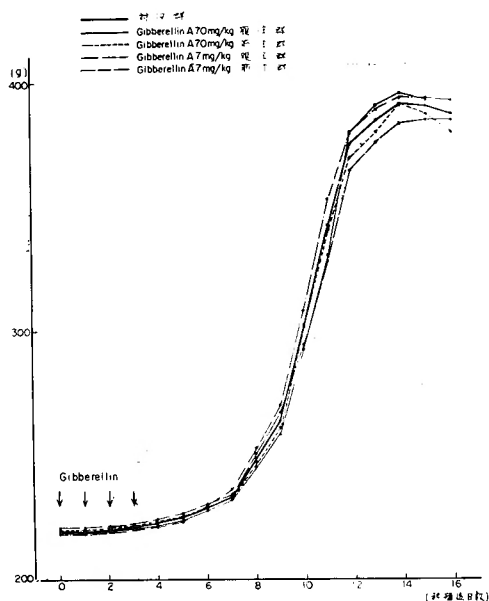


図18 Sarkoma 180 被移植マウスの体重増加に及ぼすGibberellinの影響

## 第2項 分裂細胞数の経時的変化及び異常分裂細胞、多核細胞出現率に就て

### 1) 実験方法

腹水型Sarkoma 180の細胞約2000万個を dd mouseの腹腔内に移植し、1群12匹として7群を作り、第2節、第1項と同様な方法でGibberellinを投与した。これらの動物に就いて、移植後第1日目より24時間毎に第7日目迄、第1節第2項と同様な方法で少量の腹水を採取して、各坦癌マウス毎に経時的に塗抹標本を作製し、標本はメタノール固定後フォイルゲン氏染色を型の如く行ない、ギムザ染色を追加した。

### 2) 観察方法及び実験結果

#### i) 分裂細胞数の経時的変化

上記実験に於いて第1節第2項の[iii]と同じ方法で分裂細胞数の経時的変化に及ぼすGibberellin投与の影響を観察した。

実験結果(図19, 20, 21): 700mg/kg 腹注群に於ける分裂指数は、移植後の第1日目は1.3%, 第2日目は2.5%と、対照群と大体一致した増加を示すが、この第一次増加期が移植後第4日目2.4%, 第5日目は2.1%と対照群のそれに比し約1%前後の増加を示しつつ持続され、対照群の第二次増加期を包含するような傾向を示した(図19)。又、この分裂指数の増加は、各分

裂期のほぼ一様な増加を伴っていた(図20)。他の投与群では、対照群と差違を認め得なかつた(図21)。

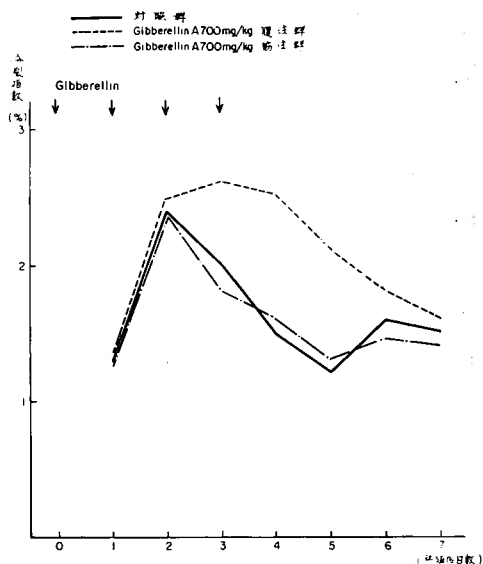


図19 Sarkoma 180 の分裂指数に及ぼすGibberellinの影響

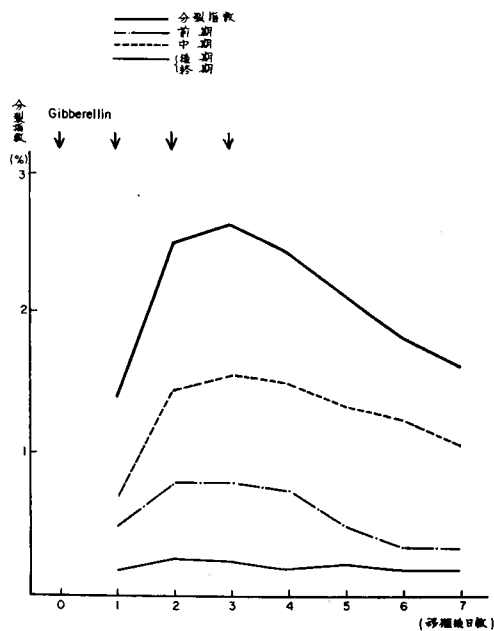


図20 Sarkoma 180 の分裂各期細胞指数の変化に及ぼすGibberellin A 700mg/kg腹腔内投与の影響

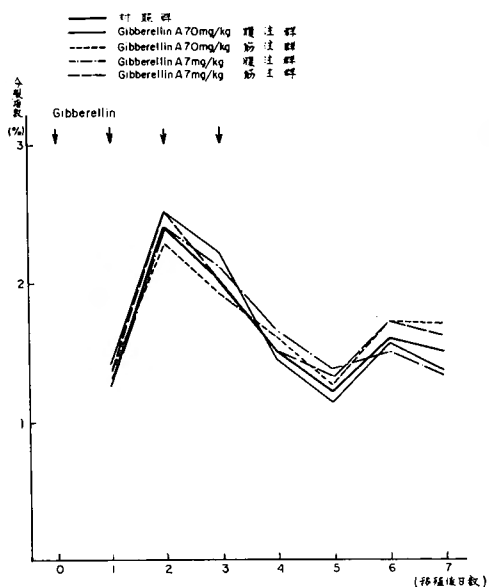


図21 Sarcoma 180 の分裂指数の変化に及ぼすGibberellinの影響

ii) 異常分裂細胞及び多核細胞出現率の変化

上記実験に於いて、異常分裂細胞、多核細胞の出現率の変化を観察した。観察は移植後第4日目に於いて、分裂細胞数の増加を来たした700mg/kg腹腔注群、変化の認められなかつた7mg/kg筋注群に就いて行なつた。異常分裂即ち、3極(図22)、4極(図23)、5極(図24)等の多極性分裂及び両極の染色体数が一見して差違を有する非対称性分裂(図25)の出現率を、分裂細胞1000個に対する数で示した。この場合、6極以上並びに極数の不明確なもの(図26)は“その他”の部分に入れて計算した。又、2核、3核、4核、5核等の多核細胞出現率を細胞5000個中の数で示した。この場合に

も6核以上、並びに核数の不明確なものは“その他”の部分に入れ計算した。

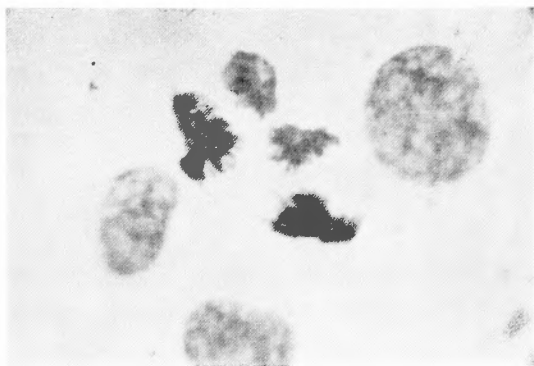


図23 4極性分裂

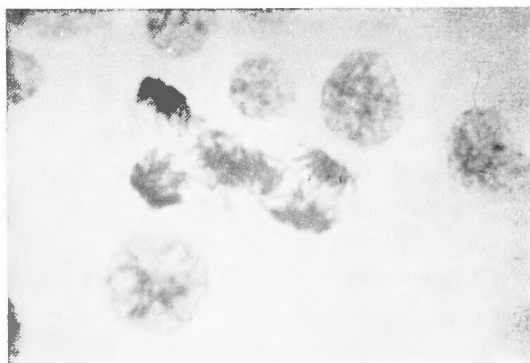


図24 5極性分裂

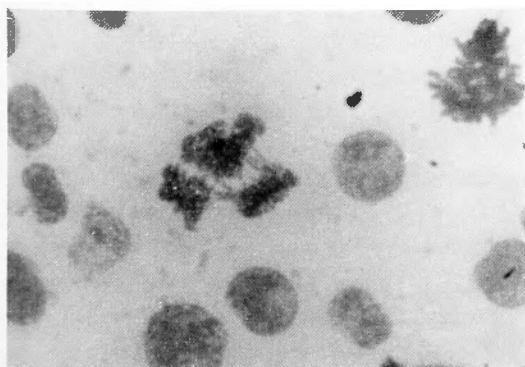


図22 3極性分裂

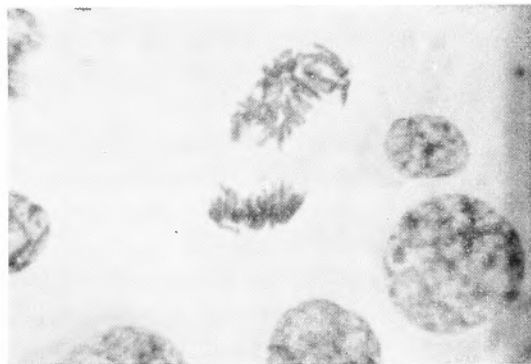


図25 非対称性分裂

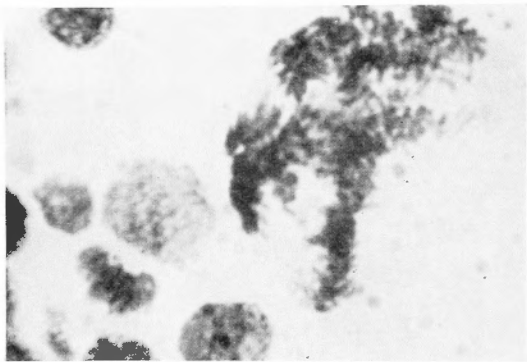


図26 極数不明のもの

実験結果(表5, 6) : 対照群, 投与群共に多極性分裂では3極性分裂細胞出現率が一番高く非対称性分裂細胞の出現率は非常に少く, 投与群, 非投与群間に差を認め得なかつた。又, 多核細胞出現率も, 投与群と非投与群との間に差を認め得なかつた。

表5 異常分裂細胞出現率

		対 照 群	7mg/kg 筋 注 群	700mg/kg 腹 注 群
多 極 性 分 裂	3極性分裂	5.0	1.5	5.2
	4極性分裂	1.7	1.8	2.0
	5極性分裂	1	1.2	0.8
	そ の 他	3	2.5	3.5
非 対 称 性 分 裂		1	1	1

表6 多核細胞出現率

	対 照 群	7mg/kg 筋 注 群	700mg/kg 腹 注 群
2 核 細 胞	25.0	23.0	24.0
3 核 細 胞	5.0	4.5	6.0
4 核 細 胞	1.5	1.0	1.5
5 核 細 胞	1.0	1.5	1.5
そ の 他	7.0	8.0	8.5

第3節 Gibberllinの1回投与の場合

第1項 増殖動物の生存日数及び体重変化に就いて

腹水型Sarkoma 180の細胞数約100万個をdd mouseの腹腔内に移植し, 移植後24時間目に1回のみ, Gibberellin A700mg/kgを腹腔内及び筋肉内に投与して, 第1, 2節の場合と同じ方法で生存日数及び体重変化に就き観察を行つたが, Gibberellin 非投与群に比較して有

意の差は認め得なかつた。

第2項 分裂細胞数の経時的变化に就いて

上記実験に於いて, 移植細胞数を2000万個として, 第1, 2節と同様な方法にて分裂細胞数の経時的变化を追求したが腹注, 筋注群共に Gibberellin 投与群及び非投与群間に有意の差を見出し得なかつた。

第5章 Ehrlich ascites carainoma.  
NF Sarkoma 被移植動物に  
於ける実験成績

第1項 Ehrlich ascites carcinoma被移植マウスに就いて

第4章のSarkoma 180 被移植動物に於けると大体同じようなGibberellin 投与方法により実験を行い, Ehrlich ascites carcinoma 被移植マウスの生存日数及び腹水貯溜状態, 分裂細胞数の経時的变化に及ぼす Gibberellin の影響を中心に観察を行つたが, Gibberellin の高濃度連続投与群に於いても, 対照群との間に有意の差は認め得なかつた。

第2項 NF Sarkoma 被移植マウスに就いて

本実験では固形形NF Sarkoma の腫瘍発育に及ぼす Gibberellin 投与の影響を観察した。

実験方法 : 移植後10日目で良好な発育を示した NF Sarkoma の単一皮下腫瘍を, 無菌的に摘出し変性壊死細胞の少い腫瘍周辺部から1mm<sup>3</sup> 程度の大きさの組織片を作製し, 滅菌生理食塩水で洗い獣医師針の先端に入れdd mouseの背側部皮下に挿入移植した。尚, 予備実験で, NF Sarkoma の腫瘍発育のばらつきを少くし発育を揃えるには, 1個の腫瘍より12~13匹への移植が限度であつた。故に, 上記方法にてNF Sarkoma を移植された被移植動物12匹を投与群, 対照群の6匹よりなる2群に分け, 投与群には移植当日より Gibberellin A700mg/kgを毎日連続して2週間投与した。これらの動物に就いて皮下腫瘍の触知可能日, 及びそれ以後隔日に腫瘍の長軸, 短軸を測定し, 長軸×短軸のcm<sup>2</sup>で腫瘍の大きさを表わし発育を比較観察した。次いで移植後14日目に実験動物を屠殺し腫瘍を摘出し10%中性ホルマリン固定, ヘマトキシリンエオジン二重染色を行つて分裂細胞の算出を行つた。

実験結果 : 皮下腫瘍の触知日は, 対照群及び投与群共に移植後5日目で, それ以後の腫瘍の発育も両者間に有意の差を見出し得なかつた。又, 分裂細胞数の出現率についても差を見出し得なかつた (図27, 28)。



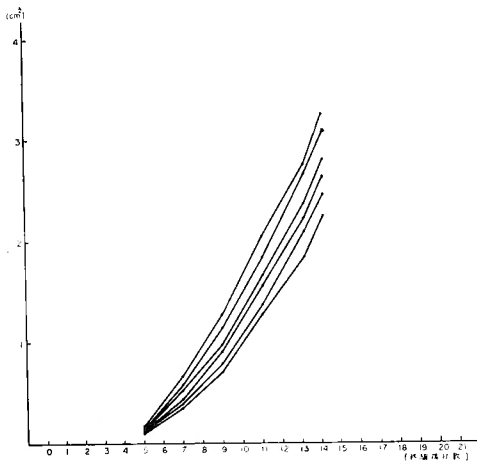


図27 NF Sarkoma の腫瘍発育曲線

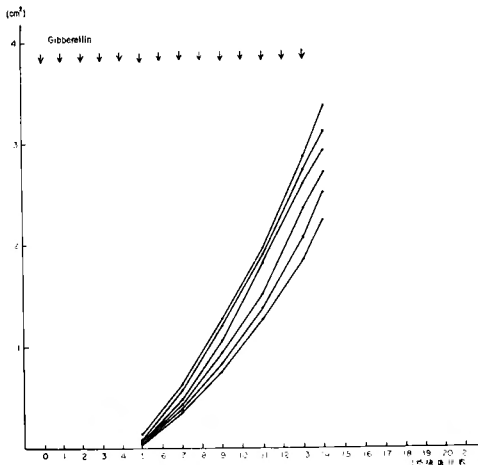


図28 NF Sarkoma の腫瘍発育曲線に及ぼす Gibberellin の影響

尚, 700mg/kg を腹腔内に 7 回連続投与してみたが, 70 mg/kg, 7 mg/kg 投与群の場合と同様に, 対照群に比較して有意の差は見出し得なかつた。

## 第 6 章 考按及び結語

現在迄何らかの人為的方法を用いて実験腫瘍の発育を人工的に促進せしめ得たという報告は少ない<sup>(13)(17)(18)(22)(23)(24)(28)(29)(30)(31)(32)</sup>。即ち, Karl E. Paschkis 等<sup>(32)(33)</sup>は, 肝臓部分切除を行つたラットの皮下に, Hepatoma, Walker 256, Lymphosarcoma, Jensen Sarkoma 等の腫瘍を移植し, これら腫瘍の発育を観察した結果, Hepatoma, Walker 256 等の上皮起源の腫瘍に発育の促

進を認めたと報告している。神前等<sup>(19)(20)(21)(22)</sup>は, 癌組織より癌特異な磷脂質を抽出し, malignolipin と名付け, その添加により Ehrlich 腹水癌接種 mouse の体重増加及び Ehrlich 腹水癌の分裂細胞数の増加を認めたと報告している。又, 久留等<sup>(17)(18)</sup>は, 癌組織より抽出した所謂, Onchotrephin が「L」株細胞等に対して細胞分裂促進効果があつたと報告している。

本実験に於いては, 植物生長調整物質の一つ, Gibberellin の実験腫瘍の増殖に及ぼす影響を観察した。植物生長調整物質は, 現在 Auxin 系, Gibberellin 系, Kinetin 系の三つに大別され, これらの植物細胞に対する作用は, 大体に於いて, Kinetin 系が分裂促進作用, Gibberellin 系が細胞体伸長或いは分裂促進作用, Auxin 系が細胞体伸長作用を持つと云われている。この内, Kinetin に就いては既に小川が実験を行い, 吉田肉腫に対して Kinetin の投与は分裂細胞数の増加をもたらしたと報告している<sup>(28)(29)</sup>。

本実験に於いて, Sarkoma 180 被移植マウスに対する Gibberellin 700mg/kg 連続投与が, Sarkoma 180 の分裂細胞指数の増加をもたらしている事実が認められたが, 分裂細胞指数の増加が即ち, 細胞分裂の促進を表わし, 細胞数の増加をもたらしているとは速断し難い。何故なら分裂時間が延長している場合には, 分裂指数は増加しても細胞数の増加を伴わなくてもよいからである。本実験に於いては, 細胞数の算定がなされてないので, この点を直接明確にする事は出来なかつた。しかし 700mg/kg 7 回連続筋肉内投与, 700mg/kg 4 回連続腹腔内投与により Sarkoma 180 被移植マウスの生存日数の短縮を認め, 且つこの短縮を来した実験動物群はやや体重増加の傾向が大きく, 死亡開始前日, すでに対照群のピーク時に相当する体重増加を示していた事実がある。この事は, 腫瘍細胞分裂の促進以外にその原因を求め難いので結局, Sarkoma 180 被移植マウスに於ける Gibberellin の大量連続投与による Sarkoma 180 分裂指数の増加は, 細胞分裂の増加を伴っていたであろうと推定せざるを得ない。次に, 700mg/kg 7 回連続腹腔内投与の場合, 移植後第 3, 4 日目に Sarkoma 180 の分裂指数の増加を認め乍ら実験動物の生存日数の短縮を来たきなかつた。此の群では筋肉内投与群と異なり, 第二次増加期に於ける分裂指数の増加を来たしていない。この事から判断すれば実験動物の生存日数に対してはむしろ第二次増加期に於ける細胞分裂の促進の影響が大きいと思われる。この考えは, 生存日数の短縮をもたらした 700mg/kg 4 回連続腹

腔内投与の場合にも分裂細胞数の増加が第二次増加期を包含するような形で起きた事実と一致する。又、この700mg/kg 7回連続腹腔内投与に於いて、Sarkoma 180の分裂細胞指数が移植後第3、4日目に増加を示し以後急激に減少したが、この投与群の細胞学的検査で移植後第6、7日目に変性細胞の出現率が非常に増加している事実が判明した。結局、Gibberellinの高濃度の大量連続腹腔内投与は、投与の初めはSarkoma 180の細胞分裂指数の増加をもたらすが、後には細胞の viability を減少させ分裂抑制の方向に働くものと推定される。細胞の大きさに及ぼす Gibberellin の影響を観察した実験に於いて、Sarkoma 180 の場合分裂指数値が一番大きい移植後第2日目のには、比較的小さい細胞の出現増加を来しており Gibberellin の大量連続投与により分裂指数値の増加がもたらされた時期にも、比較的小

さい細胞の出現増加が認められた。この事は、Ehrlich ascites carcinoma の細胞分裂の盛んな移植後第3日目頃には比較的小さい細胞の出現が増加し、いわゆる肥腫細胞の出現は減少しているという小山の報告<sup>2)</sup>と一致する。この点からみてもGibberellin投与によるSarkoma 180分裂指数の増加は、細胞分裂の促進を伴っていると推定してよいであろう。即ち、Gibberellin投与の結果認められた細胞の大きさの減少は、Gibberellinの直接的な影響ではなく、分裂促進の結果2次的に現われたものと考えられる。

要するにSarkoma 180に対してはGibberellinは或程度の細胞分裂促進作用のある事が認められたが、Ehrlich ascites carcinoma、NF Sarkoma に対しては発育促進作用も、又抑制作用も認められなかつた。

## 第2編 癌細胞の in vivo synchronization に及ぼす Gibberellin の影響

### 第1章 緒 言

本教室の高橋<sup>39)</sup>、加藤<sup>16)</sup>、三浦<sup>25)</sup>等は、低体温法に依り癌細胞分裂のin vivo synchronizationを起こさせ、これらの同調した癌細胞の分裂開始前の或る一定時期に制癌剤を投与し、治療効果の著明なる増強を認めた。この際、もし何らかの方法で、この低体温法による癌細胞分裂の同調率を向上せしめ得るならば、その治療効果は更に高め得るものと思われる。第1編の実験に於いて、Sarkoma 180を移植したdd mouseに対して、Gibberellinの大量連続投与がSarkoma 180の分裂細胞数の増加をもたらし、しかも細胞の分裂増加を伴っているであろうと推定された。そこでこの Gibberellin 投与により generation time の短縮がもたらされていると思われる時期に低体温を行い、低体温法による癌細胞分裂の同調率に Gibberellin が如何なる影響を及ぼすかを検討した。実験動物、実験材料及び分裂細胞数の算出法等は第1編に於けると同様である。

### 第2章 予備実験

#### 1) 実験目的

Nembutal そのものが分裂細胞数の出現率に及ぼす影響を Gibberellin 投与動物群及び非投与動物群について観察した。

#### 2) 実験方法

Sarkoma 180の細胞数2000万個をdd mouseの腹腔内に移植し、被移植動物を12匹よりなる2群即ち、Gibberellin投与群及び非投与群に分けた。

i) Gibberellin非投与群は、更に nembutal 投与群及び非投与群の6匹よりなる2群に分け、移植後丁度4日目に、投与群には50mg/kgのNembutalを皮下に投与し3時間後25mg/kgを追加投与した。

ii) Gibberellin 投与群では、移植後直ちに700mg/kgのGibberellin Aの第1回目を腹腔内に投与し、以後24時間毎に合計4回の投与を行った。更に、移植後丁度4日目に、Nembutal 投与群、及び非投与群の2群に分けて投与群には i) と同様な方法でnembutalを投与した。

以上の各群につき、Nembutal 投与の直前、以後2時間毎に3回、即ち、6時間の間分裂指数の推移を観察した。

#### 3) 実験結果 (図29, 30)

Gibberellin投与、非投与群とも nembutal 投与は分裂細胞数の変化に影響を及ぼさなかつた。

### 第3章 本実験

#### 1) 実験方法

Sarkoma 180の細胞数約2000万個をdd mouseの腹腔

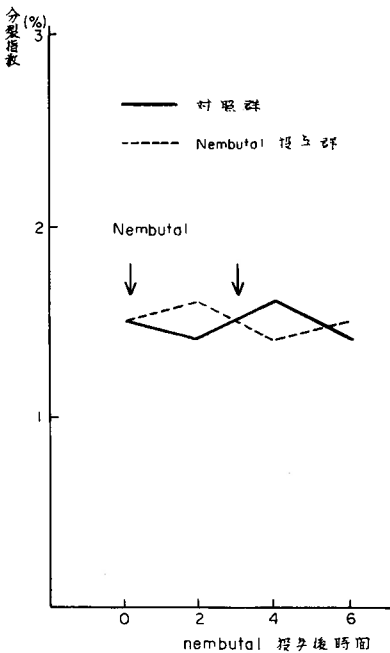


図29 Sarkoma 180 の分裂指数に及ぼすNembutalの影響

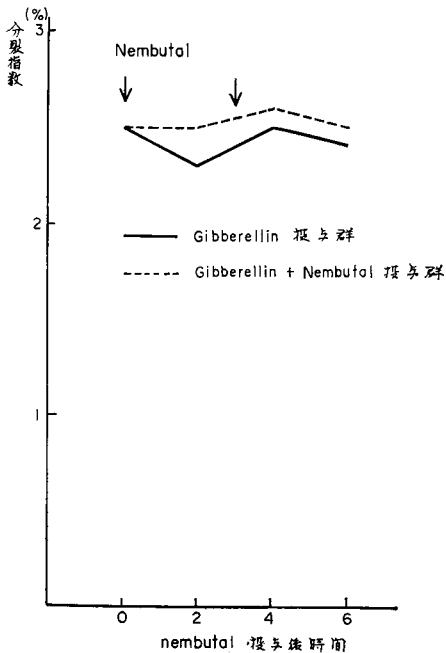


図30 Gibberellin 投与下におけるSarkoma 180の分裂指数に及ぼすNembutalの影響

内に移植し、被移植動物を1群10匹よりなるGibberellin投与群、非投与群に2分し、投与群にはGibberellin A 700mg/kgを移植直後に第1回以後24時間毎に連続して合計4回の投与を行つた。移植後第4日目に投与群、非投与群共に直腸温 $17^{\circ}\text{C}$ で6時間の低体温を施行し、低体温中及び復温後44時間の間、腹水中の分裂細胞数の経時的变化を追求めた。即ち、実験動物群にnembutal 50mg/kgを皮下に注射し、麻酔した後、実験動物群を氷水中の鉄製容器に入れ冷却し、術前平均直腸温 $37^{\circ}\text{C}$ を約30分間で直腸温 $17^{\circ}\text{C}$ に迄下降させ以後15分毎にサーミスターで検温を行い、6時間の間直腸温を $17^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ の間に保持した。この間低体温3時間目に麻酔よりの覚醒を防ぐ為に、25mg/kgのnembutalの皮下注射を追加した。低体温終了後は直ちに加温して約30分間で術前の直腸温 $37^{\circ}\text{C}$ に復温せしめた。この低体温中及び復温後24時間毎は各一時間毎に、それ以後復温後44時間毎は2時間毎に分裂細胞数を測定し、その経時的变化を追求めた。

## 2) 実験結果

対照群に就いて(図31)：低体温開始直前 $1.7\%$ を示した分裂指数値は、低体温中漸次減少し復温後も尚暫く減少しつづけ復温後4時間目に最低値 $0.7\%$ に至り、その後急激に増加しはじめ、復温後10時間目には指数値の曲線上で第一次ピーク $3.5\%$ に達した。以後再び漸次減少し24時間目に $1.4\%$ に至り、その後再び増加して28時間目には第二次ピーク $2.7\%$ が現われたが第一次ピーク程著明でなかつた。尚、第一次ピークと第二次ピークとの間隔は約18時間であつた。又、分裂各期毎の指数値の変化を見ると、低体温開始と共に先づ前期出現率の減少が一番著明に現われ、復温後は先づ最初に前期出現率が増加を示し初め、これに中期出現率、後期+終期出現率の順に増加を示し、又この順に各々のピークを形づくつた。

Gibberellin投与群に就いて(図32, 33)：低体温開始直前 $2.7\%$ であつた分裂指数値は、低体温中及び復温後も暫くの間徐々に減少して、復温後4時目に最低値 $1.2\%$ に至つた。その後急激に増加して、10時間目には第一次ピーク $4.0\%$ に達し、対照群より約 $0.5\%$ の増加を示した。以後再び減少しはじめ22時間目には最低値 $1.6\%$ に至り、その後は再び増加して26時間目には第二次ピーク $2.8\%$ に達した。この時の第二次ピークの値は対照群と大差なかつた。両ピーク間の間隔は、16時間で対照群より約2時間の短縮を示した。

分裂各期毎の分裂指数の変化は、大体に於いて対照

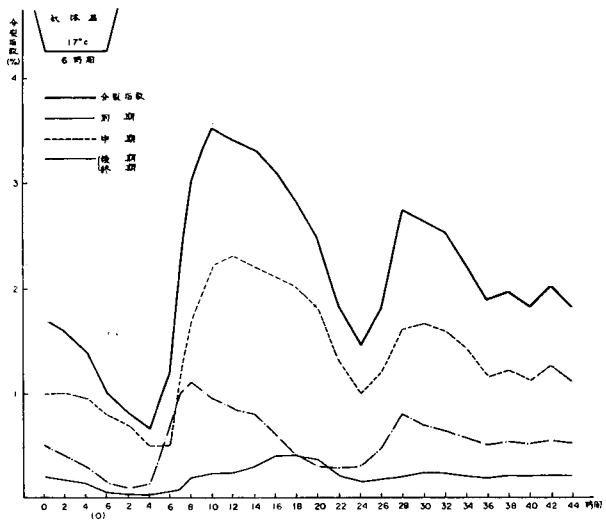


図31 低体温法によるSarkoma 180の同調分裂

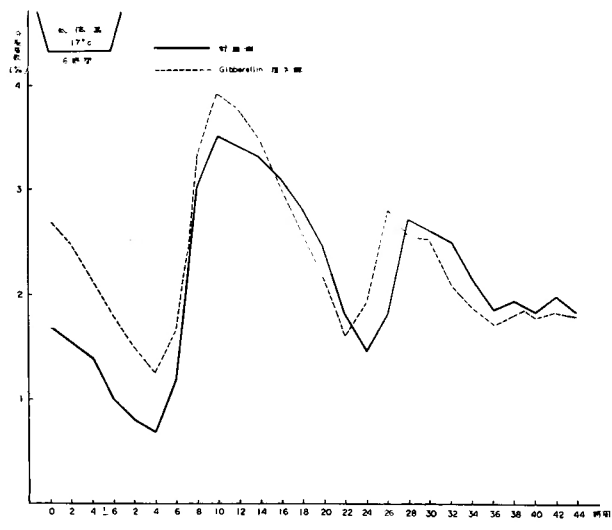


図32 低体温法による Sarkoma 180 の同調分裂に及ぼす Gibberellinの影響

群と同じく、低体温開始と共に前期出現率が著明に減少し、その後の中期、後期+終期も減少しはじめ、復温後、最初に前期出現率が増加し、この後、中期出現

率、後期+終期の出現率の順に増加しはじめ、同じ順序で各期のピークを形づくつた。

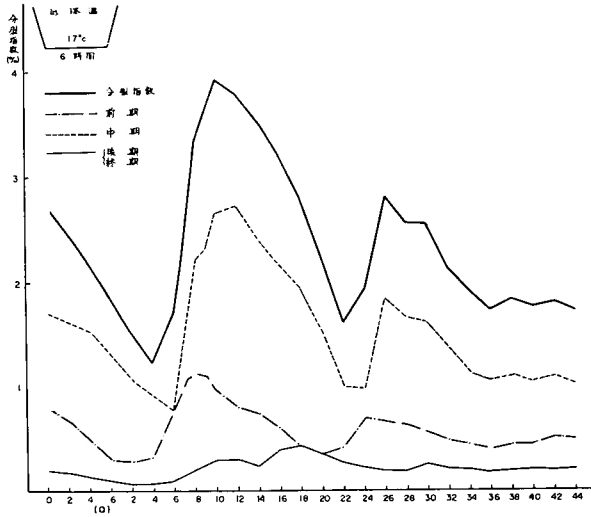


図32 低体温法による Sarkoma 180 の同調分裂に及ぼす Gibberellinの影響

#### 第4章 考 按

理論上考えられる完全な細胞分裂同調の場合と異なり、種々の方法で人為的に細胞分裂を同調させた実際の場合には<sup>14)15)26)27)34)35)36)37)38)</sup>、全ての細胞が同一時刻に分裂をするのではなくて、或る一定の時間的巾 deviation を有しているものと考えられる。Newton<sup>27)</sup>は、之を parasynchronous division と表現している。例えば低体温法により同調分裂を起させる場合でも個々の腫瘍細胞の低体温に対する感受性が異なる事、又、夫々の life span が必ずしも皆同じでない事、又、life span のうちの各相が必ずしも低体温に対する感受性が同じであるとは限らない事など、種々の因子がこの parasynchronization という現象に関与しているであろう事は想像に難くない。細胞の generation time を短縮すれば、これらの細胞に同調分裂を起させた時に見られる個々の細胞の分裂時刻の時間的巾 deviation も狭くなりその結果、同調分裂を利用する化学療法の効果に良い影響を及ぼす可能性がある。一般に分裂同調により分裂指数曲線上のピークが形成される場合には、両ピーク間の時間は、その細胞の本来の generation time に密接な関係があり、それよりやや短いと云われてい

る<sup>27)36)</sup>。

本実験では、Gibberellin 投与群のピークの間隔が、Gibberellin 非投与の低体温群に比し約2時間の短縮を来たしていた。第1編に述べた根拠の他にこの事実も Gibberellin 投与により generation time が短縮されるという推定を支持するものと思われる。尚、本実験に於いては、同調率の指標として分裂指数値の変動を観察したが、generation time の短縮が予想された群に於いてさえ対照群に比し第一次ピークに於いて僅かに約0.5%の向上しか得られなかつた。併、Newon<sup>27)</sup>は、Hela cell に於ける低体温法に依る分裂同調の実験に於いて、分裂指数値は約1.5%の正常値から3.5%への増加しか示さなかつたにもかかわらず、実際に測定した細胞数に於いては1時間以内に約70~80%の増加を来たした事実を認めている。本実験では、分裂指数は Gibberellin 投与下に低体温を施行する事に依つて、未処理坦癌動物に於ける値1.7%から4.0%に増加した。この場合、実際の細胞数測定は行なわなかつたが、Newton の成績を考慮すれば、低体温後比較的短時間に相当数の細胞が実際に分裂増加したものと推定出来る。

以上、Gibberellin 投与により generation time の短縮

がもたらされていると思われる細胞群に低体温法による細胞分裂同調を行つたが、分裂指数値を同調の指標

とした場合、単なる低体温施行に比較して、或る程度  
の同調率の向上をもたらす事が出来た。

### 第3編 総括及び結語

実験動物腫瘍として、Sarkoma 180, Ehrlich ascites carcinoma, NF Sarkoma 等を使用し、これ等の被移植マウスに Gibberellin を投与し、担癌マウスの生存日数、腹水貯溜状態、腫瘍の発育状態、腫瘍細胞の組織学的検査、腫瘍細胞分裂数の経時的变化、異常細胞分裂等に及ぼす影響を検索した。

#### 1) Sarkoma 180に就いて

- i) Gibberellin A 700mg/kg連続投与では、担癌マウスの体重増加の傾向が大となり、生存日数の短縮が認められた。
- ii) Gibberellin A 700mg/kg連続投与は、腫瘍細胞分裂指数値の増加をもたらした。これは腫瘍細胞の分裂増加を伴っているであろうと推定された。
- iii) Gibberellin A 700mg/kg 連続投与による腫瘍細胞の分裂指数値の増加期には、比較的小さい細胞の出現増加が認められた。
- iv) 投与量の如何にかかわらず、Gibberellin は異常細胞分裂等には、何らの影響も及ぼさなかつた。

2) Ehrlich ascites carcinoma, NF Sarkoma に対して  
本実験の範囲内では、Gibberellin の影響を認め  
得なかつた。

次に、低体温法による癌細胞分裂の *in vivo* synchronization に Gibberellin が如何なる影響を及ぼすかを検討する為、Sarkoma 180 を接種したマウスに Gibberellin A の大量連続投与後、腫瘍細胞の分裂指数値が増加している時期に 17°C 6 時間の低体温を行い、次いで正常体温に復温し分裂指数の変化を調べた。

- i) 低体温後、同調分裂をする腫瘍細胞の分裂指数曲線には少くとも 2 つのピークが認められるが、それらのピークの間隔は Gibberellin 投与により約 2 時間短縮した。
- ii) 低体温法により誘起される癌細胞分裂の同調率は、Gibberellin 投与により或程度向上した。即ち、未処理担癌動物に於ける 1.7% の分裂指数は低体温法により同調し 3.5% に達するが

Gibberellin 投与下に之を 4% に迄向上させる事が出来た。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲の労を賜つた恩師荒木千里教授に深甚の謝意を捧げ、又、終始御懇篤なる御指導、御助言を賜つた横山育三助教授に衷心より深謝致します。

### 参 考 文 献

- 1) 安立良治：骨端軟骨の生長に及ぼすジベレリンの影響。日外宝，32：169-185，38。
- 2) 小山八郎：エールリッヒ腹水癌細胞の形態学的研究。大阪大学医学雑誌，6：349-364，昭29。
- 3) 生化学講座9（植物の生化学）：ジベレリン，234，共立出版K.K.，昭30。
- 4) 住木諭介：ジベレリンの化学とその生理。蛋白質核酸酵素，3：189-194，1958。
- 5) 住木諭介：植物生長調整物質の化学。有機合成化学協会誌，18：79，1960。
- 6) 住木諭介：ジベレリンと植物の異常生成。科学，25：563，1955。
- 7) 住木諭介：植物生長ホルモンの科学，Gibberellin。化学，8：392，昭26。
- 8) 武田薬品工業K.K.研究部：武田ジベラ，1957。
- 9) 林 武：ジベレリン研究の概観。日土肥誌，30：553，昭35。
- 10) 藪田貞二郎，住木諭介：稲馬鹿苗病菌の生化学（第14報）。動物組織培養に及ぼすGibberellin A の影響。日農化誌，18：207，1942。
- 11) 藪田貞二郎，林 武：稲馬鹿苗病菌の生化学（第2報）。稲馬鹿苗病菌の生産する稲苗を徒長せしむる物質 Gibberellin に就いて。日農化誌，15：257，1939。
- 12) 藪山 淳：培養軟骨細胞及び線維芽細胞の発育に及ぼす Gibberellin の影響。中部日本整形外科災害外科会雑誌，5：387-402，昭37。
- 13) Blomqvist, K.: Growth stimulation in the liver and tumor development following intraperitoneal injections of liver homogenates in rat. Acta path. et microbiol. Scand., Suppl. 121, 1957.
- 14) Chévrement-Comhaire, S., and Chévrement, M.: Action de températures subnormales suivies de réchauffement sur l'activité mitotique en cul-

- ture de tissus. Contribution à l'étude de la préparation à la mitose. *Comp. Rend. Soc. Biol.*, **150** : 1046-1049, 1956.
- 15) Cohen, S. S., and Barner, H. D.: Studies on unbalanced growth in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **40** : 885-893, 1954.
- 16) Kato, T.: Experimental studies on application of hypothermia to cancer chemotherapy. *Arch. Jap. Chir.*, **33** : 724-752, 1964.
- 17) Kuru, M., Kosaki, G., Matuda, M., and Hukui, T.: On a studies on a mitosis promoting substance (oncotrephin) in human malignant tumors: Its effect on strain L cells. *Gann*, **50** : 121-126, 1959.
- 19) Kosaki, T.: A new phospholipid malignolipin, in human malignant tumors. *Science*, **127** : 1176, 1958.
- 20) Kosaki, T., and Nakagawa, S.: On malignolipin I. Detection of malignolipin in blood. *Proc. Japan Academy*, **34** : 295-296, 1957.
- 21) Kosaki, T., and Saka, T.: On malignolipin II. Histological detection of malignolipin. *Proc. Japan Academy*, **34** : 295-296, 1957.
- 22) Kosaki, T., and Nakagawa, S.: On malignolipin III. The effect of malignolipin on the growth of Ehrlich's ascites cancer. *Proc. Japan Academy*, **34** : 297-298, 1957.
- 23) Lettré, H., Friedrich-Karl, H., and Spirio, B.: Ueber das Verhalten von Bestandteilen von Tumorzellen bei der Transplantation. VI. Verhalten der Mitose von Tumorzellen nach der Injektion von Zellbestandteilen der gleichen Tumorart. *Z. Krebsforsch.*, **59** : 64-67, 1953.
- 24) Lettré, H., and Thom, H.: Ueber das Verhalten von Bestandteilen von Tumorzellen bei der Transplantation. XII. Mitoseanregung durch Mitochondrien und Kerntrümmer normaler und maligner Zellen. *Z. Krebsforsch.*, **61** : 120-124, 1956.
- 25) Miura, R.: In vivo synchronous mitosis of cancer cells induced by hypothermia and its application to cancer chemotherapy. *Arch. Jap. Chir.*, **33** : 581-600, 1964.
- 26) Maruyama, Y., and Yanagita, T.: The physical methods for obtaining synchronous culture of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **71** : 542-546, 1956.
- 27) Newton, A. A., and Wildy, P.: Parasynchronous division of HeLa cells. *Exptl. Cell Research*, **16** : 624-635, 1959.
- 28) Ogawa, Y.: Two chemicals promoting cell division in the Yoshida sarcoma cells. *Exptl. Cell Research*, **15** : 415-418, 1958.
- 29) Ogawa, Y., Abe, Y., and Fujioka, K.: Effects of kinetin on division of Yoshida sarcoma cells. *Nature*, **180** : 985-986, 1957.
- 30) Ogawa, Y., and Fujioka, K.: Growth, differentiation and regeneration. IV. Observation on a Yoshida sarcoma mitotic stimulant present in rat embryo tissue. (in Japanese). *Med. and Biol.*, **46** (3) : 99-102, 1958.
- 31) Ogawa, Y., and Fujioka, K.: Growth, differentiation and regeneration. V. Observation on a mitotic stimulant present in pregnant serum. (in Japanese). *Med. and Biol.*, **46** (5) : 194-197, 1958.
- 32) Paschkis, E. K., Cantarow, A., Stasney, J., and Hobbst, H.: Tumor growth in partially hepatectomized rats. *Cancer Research*, **15** : 579-582, 1955.
- 33) Paschkis, E. K., Cantarow, A., and Goddard, J.: Growth stimulating actions of liver preparations. *Fed. Proc.*, **16** : 98, 1957.
- 34) Plesner, P. E.: The nucleoside triphosphate content of *Tetrahymena pyriformis* during the division cycle in synchronously dividing mass cultures. *Biochim. et Biophys. Acta*, **29** : 462-463, 1958.
- 35) Prescott, D. M.: Microtechniques in Amoeba studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **78** : 655-661, 1959.
- 36) Scherbaum, O., and Zeuten, E.: Induction of synchronous cell division in mass cultures of *Tetrahymena pyriformis*. *Exptl. Cell Research*, **6** : 221-227, 1951.
- 37) Scott, D. B. M., and Chu, E.: Synchronized division of growing cultures of *Escherichia coli*. *Exptl. Cell Research*, **14** : 166-171, 1958.
- 38) Scott, D. B. M., and Chu, E.: Periodicity in the synthesis of RNA in synchronized cultures of *Escherichia coli* in the presence and absence of 4-Mercapto pyrimidine. *Exptl. Cell Research*, **18** : 392-396, 1959.
- 39) Takahashi, H.: Cancer chemotherapy by use of hypothermia. *Arch. Jap. Chir.*, **32** : 648-672, 1963.